

SINTESIS SENYAWA 1,4-BIS [(2-HIDROKSI-3-METOKSI-5-FORMALDEHID-FENIL)-METIL] PIPERAZIN DARI BAHAN DASAR VANILIN DAN UJI AKTIVITASNYA SEBAGAI ZAT ANTIOKSIDAN

Susy Yunita Prabawati^{1*}, Andika Fajar Setiawan¹, Arini Fawzia Agustina¹

¹Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta

* E-mail: susyprabawati@gmail.com

Abstract

A study has been conducted to synthesize 1,4-bis [(2-hydroxy-3-methoxy-5-methanal-phenyl)-methyl] piperazin using vanillin as a starting material. It was of interest to investigate the activity of that compound, as an antioxidant with DPPH method. The synthesis was carried out through Mannich reaction using vanillin, formaldehyde, and piperazin. The product was obtained as a white solid, melting point 245-247°C with a yield of 67.49%.

Characterization of the product by IR and ¹H NMR spectrophotometry, showed the formation of methylene bridge. This indicated that the compounds synthesized was 1,4-bis [(2-hydroxy-3-methoxy-5-methanal-phenyl)-methyl] piperazin. The test of antioxidant activity with DPPH method showed that 1,4-bis [(2-hydroxy-3-methoxy-5-methanal-phenyl)-methyl] piperazin had antioxidant activity better than vanillin with IC₅₀ values was 0.661 mM while vanillin was 3.158 mM.

Keywords: piperazin, vanilin, antioksidan

A. Pendahuluan

Dewasa ini perubahan pola hidup masyarakat seringkali menjadi faktor penyebab terganggunya kesehatan manusia. Salah satu senyawa yang perlu diwaspadai adalah adanya radikal bebas dalam tubuh. Senyawa radikal bebas dapat terbentuk akibat berbagai proses kimia kompleks yang terjadi di dalam tubuh, seperti berasal dari hasil samping proses oksidasi atau pembakaran sel yang berlangsung pada waktu bernapas, metabolisme sel, dan olahraga yang berlebihan (Winarsi, 2007). Makanan instan, polusi udara dari asap kendaraan bermotor, asap rokok, bahan pencemar dan radiasi sinar UV akibat dari penipisan lapisan ozon juga menjadi sumber utama keberadaan radikal bebas (Jain dkk. 2004).

Pada dasarnya, tubuh memiliki mekanisme pertahanan terhadap serangan radikal bebas yaitu dengan bantuan enzim dan nutrisi antioksidan (Youngson, 2005).

Akan tetapi, paparan bahan-bahan kimia dari polusi dan asap rokok yang terus menerus serta gaya hidup yang tidak sehat dapat meningkatkan jumlah radikal bebas dalam tubuh hingga melebihi kapasitas sistem pertahanannya. Oleh karena itu, tubuh memerlukan antioksidan tambahan yang dapat membantu melindungi tubuh dari serangan radikal bebas.

Berbagai antioksidan telah banyak dikembangkan, baik dari antioksidan alami maupun antioksidan sintetik. Antioksidan alami umumnya berupa senyawa-senyawa fenolik yang terdapat dalam berbagai tanaman (Khalil *et al.*, 2007) sedangkan antioksidan sintetik, seperti butil hidroksi anisol (BHA) dan butil hidroksi toluen (BHT), merupakan antioksidan yang dirancang berdasarkan mekanisme penghambatan radikal oleh antioksidan alami (Bondet *et al.*, 1997). Sebagian besar senyawa-senyawa fenolik yang terdapat pada tanaman memiliki aktifitas antioksidan yang rendah akan tetapi tidak memiliki efek samping layaknya antioksidan sintetik (Gharavi *et al.*, 2007). Masalah ini memberikan peluang untuk menemukan senyawa antioksidan yang lebih baik.

Indonesia merupakan negara yang kaya akan tanaman yang memiliki potensi sebagai antioksidan. Salah satu senyawa alam yang memiliki aktivitas antioksidan adalah vanilin (Shyamala dkk. 2007). Vanilin merupakan senyawa hasil isolasi dari buah vanilla (*Vanilla planifolia* Andrews). Vanilin memiliki nama kimia 4-hidroksi-3-metoksi benzaldehida ($C_8H_8O_3$) dan termasuk dalam golongan senyawa fenol.

Hasil penelitian terdahulu menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan dari vanilin masih cukup rendah. Penelitian yang dilakukan oleh Shyamala dkk. (2007) melaporkan bahwa untuk menetralkan radikal bebas dibutuhkan vanilin dengan konsentrasi yang tinggi. Aktivitas antioksidan suatu senyawa golongan fenol dapat ditingkatkan dengan menambahkan suatu gugus pendonor elektron pada posisi *orto* dan *para* dari gugus hidroksi pada cincin benzena (Prawono, 2000). Oleh karena ini dalam penelitian ini akan disintesis senyawa baru turunan vanilin dalam suatu reaksi Mannich dengan menggunakan piperazin sebagai amina sekunder. Piperazin akan terikat pada posisi *orto*

dari gugus hidroksi vanillin dan dengan adanya dua buah atom N pada piperazin maka akan dihasilkan suatu senyawa baru turunan vanilin yaitu 1,4-bis [(2-hidroksi-3-metoksi-5-formaldehid-fenil)-metil]piperazin. Diharapkan senyawa baru hasil sintesis ini akan memiliki aktivitas sebagai antioksidan yang lebih tinggi dari vanilin.

B. Metode Penelitian

Alat

Peralatan yang digunakan meliputi alat gelas laboratorium, seperangkat alat refluks, evaporator Buchi, timbangan elektronik, pemanas dan pengaduk magnet, *mantel heater*, alat penentu titik lebur (elektrotermal 9100), spektrofotometer infra merah (IR, Shimadzu 8201 PC), spektronik 20 dan spektrofotometer resonansi magnet inti ($^1\text{H-NMR}$, JEOL-MY500).

Bahan

Bahan yang digunakan adalah piperazin anhidrat, formaldehida, vanilin, benzena kering, kloroform p.a., metanol p.a., dan DPPH.

Prosedur Penelitian

Sintesis Senyawa 1,4-bis [(2-hidroksi-3-metoksi-5-metanal-fenil)-metil] piperazin

Sebanyak 15 mmol vanilin (2,2821 g) dan 15 mmol formaldehida (0,45 g) dilarutkan dalam 50 mL benzena kering kemudian ditambahkan 7,5 mmol piperazin (0,646 g). Campuran direfluk selama 20 jam. Hasil refluk tersebut disaring dan residu yang didapatkan kemudian direkristalisasi dengan pelarut kloroform-metanol.

Senyawa hasil sintesis di uji kemurniannya dengan mengukur titik lebur. Senyawa murni tersebut kemudian ditentukan struktur senyawanya dengan spektrometer IR dan $^1\text{H-NMR}$.

Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Larutan induk dari 1,4-bis [(2-hidroksi-3-metoksi-5-metanal-fenil)-metil] piperazin dibuat dengan konsentrasi 2 mM menggunakan pelarut kloroform. Larutan induk tersebut diencerkan hingga mendapatkan variasi konsentrasi 0,2; 0,4; 0,6; dan 1

mM. Masing-masing larutan diambil 0,5 mL untuk ditambahkan pada larutan DPPH yang telah disediakan dalam kuvet (4,5 mL) sehingga total larutan yang akan diuji adalah 5 mL. Selanjutnya, larutan divortek selama 30 detik dan diinkubasi pada suhu kamar selama 45 jam. Setelah 45 jam, absorbansi larutan diukur dengan spektrofotometer visibel pada panjang gelombang 530 nm. Perlakuan yang sama juga dilakukan pada larutan kontrol (0,5 mL kloroform dalam 4,5 mL larutan DPPH). Selanjutnya data absorbansi yang diperoleh diolah dan diperoleh grafik untuk menentukan harga IC₅₀.

Penentuan aktivitas antioksidan dilakukan melalui perhitungan nilai IC₅₀ (*inhibitory concentration 50%*) yaitu nilai yang menggambarkan besarnya konsentrasi sampel yang dapat menghambat radikal bebas sebesar 50% yang diperoleh melalui persamaan regresi linier antara konsentrasi sampel (X) dengan persen inhibisi (Y).

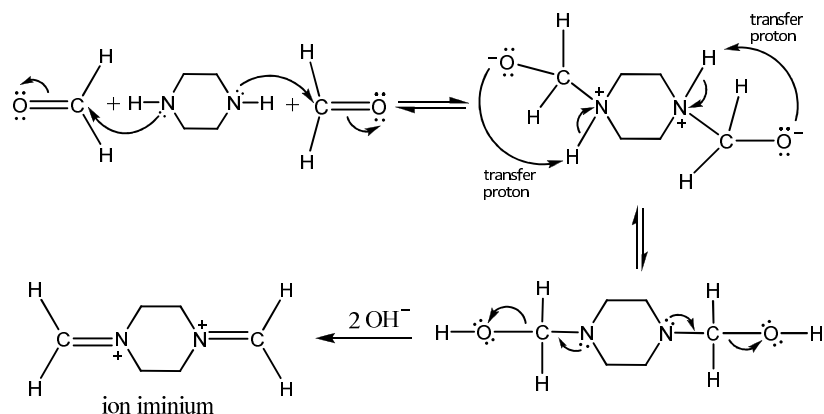
$$\text{Persen (\%) inhibisi} = \frac{(\text{Abs kontrol} - \text{Abs sampel})}{\text{Abs kontrol}} \times 100\%$$

C. Hasil Dan Pembahasan

Sintesis Senyawa 1,4-bis [(2-hidroksi-3-metoksi-5-metanal-fenil)-metil] piperazin

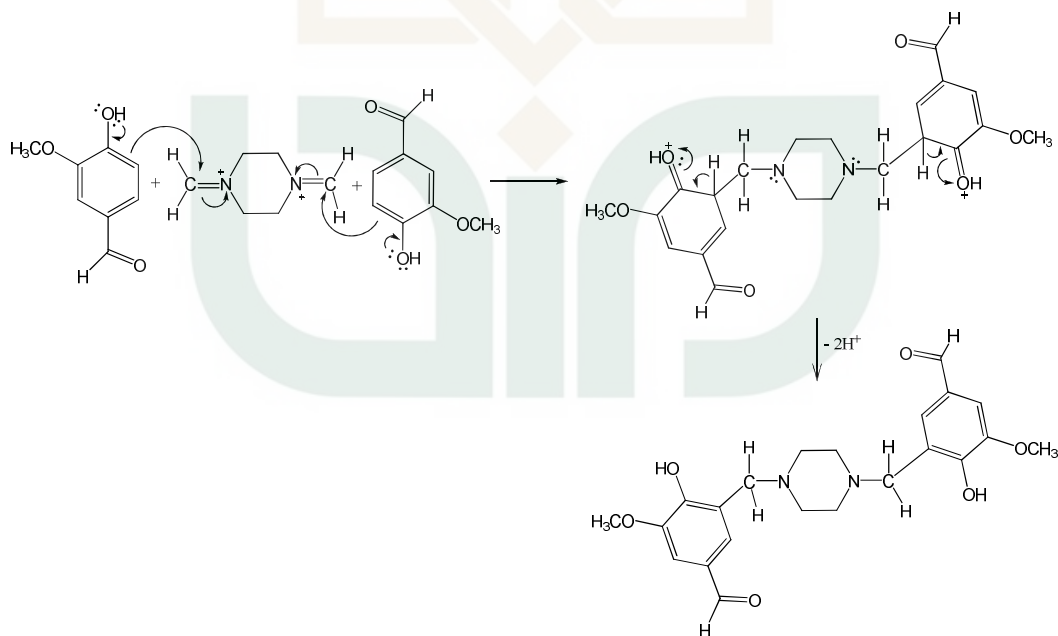
Senyawa 1,4-bis [(2-hidroksi-3-metoksi-5-metanal-fenil)-metil] piperazin disintesis dengan metode hasil modifikasi sintesis dari Chi et al. (2002) dengan perbandingan mol antara piperazin, vanilin, dan paraformaldehid masing-masing adalah 1:2:2 dalam pelarut benzene kering.

Reaksi yang terjadi pada 1 molekul piperazin, 2 molekul vanilin, dan 2 molekul formaldehid merupakan reaksi Mannich ganda (Chi et al., 2002). Reaksi ini menjadikan 2 molekul vanilin akan terikat pada 1 molekul piperazin yang dijembatani oleh gugus metil. Mekanisme reaksi terjadi dalam dua tahap. Tahap pertama adalah tahap pembentukan ion iminium dari piperazin dan formaldehida. Mekanisme reaksi yang terjadi disajikan pada Gambar 1 berikut.



Gambar 1. Mekanisme Reaksi Mannich Tahap Pertama

Pada mekanisme reaksi tahap pertama ini terjadi reaksi substitusi nukleofilik dari atom N dari piperazin ke C karbonil dari formaldehid. Atom nitrogen memiliki pasangan elektron bebas (PEB) sehingga bersifat nukleofilik, sedangkan C karbonil pada formaldehid bersifat elektrofilik karena kuatnya elektronegativitas dari atom O sehingga awan elektron akan lebih mengarah pada atom O yang menyebabkan atom C bersifat elektrofili.

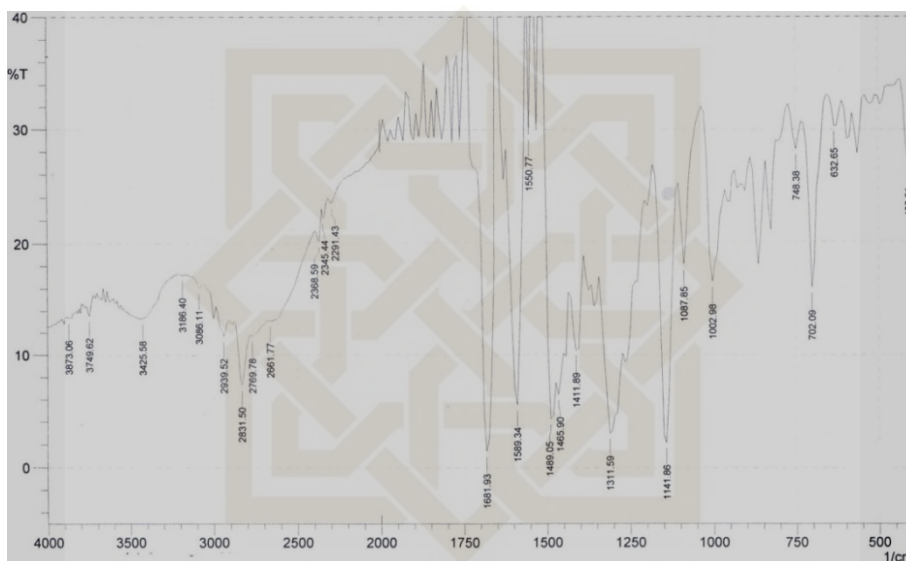


1,4-bis [(2-hidroksi-3-metoksi-5-(2-propenil) fenil)-metil] piperazin

Gambar 2. Mekanisme Reaksi Mannich Tahap Kedua

Pada mekanisme reaksi tahap kedua ini terjadi reaksi substitusi elektrofilik pada cincin aromatis dari vanilin. Elektrofil berasal dari ion iminium yang terbentuk pada reaksi tahap pertama. Selain membentuk senyawa target, reaksi ini juga menghasilkan 2 ion H^+ .

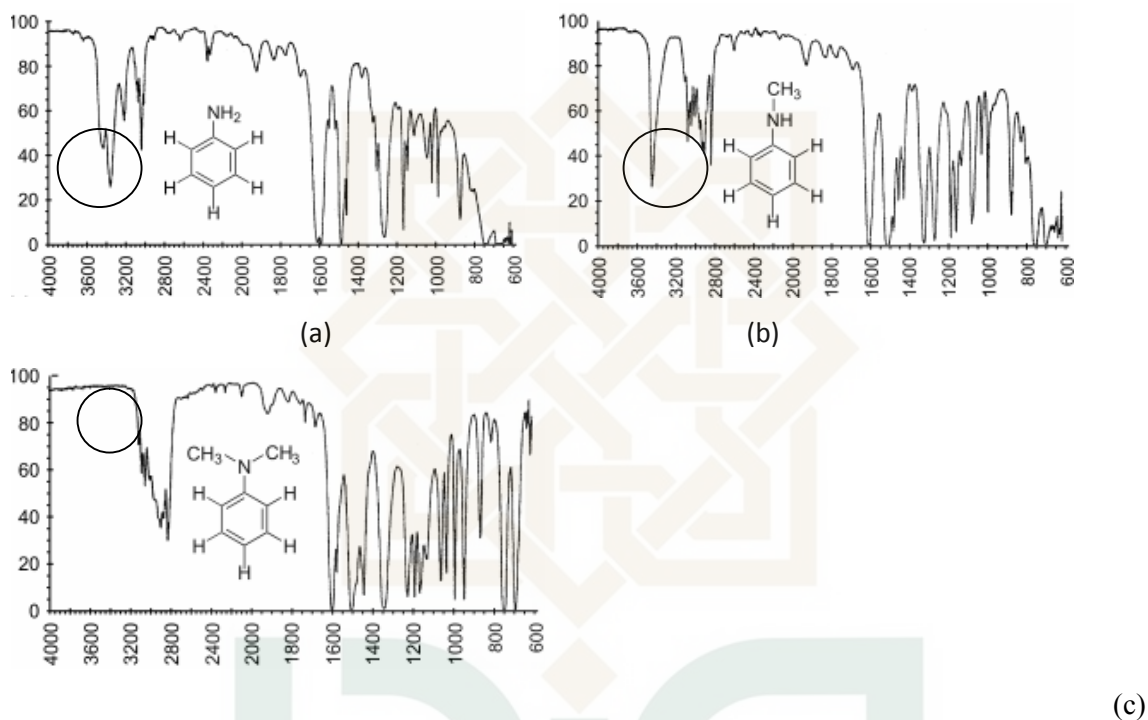
Produk reaksi menghasilkan suatu padatan putih dengan rendemen 67,49 % dan titik lebur 245-247°C. Analisis dengan menggunakan spektrofotometri IR memberikan spektra sebagaimana ditunjukkan pada Gambar 3 berikut :



Gambar 3. Spektra IR (pelet KBr) dari Senyawa Hasil Sintesis

Identifikasi lanjut menggunakan spektrofotometri IR, memberikan hasil yaitu munculnya serapan pada daerah sekitar 3425,58 cm^{-1} yang karakteristik untuk rentangan O-H. Serapan pada daerah 3086,11 cm^{-1} muncul akibat adanya vibrasi rentangan C-H tak jenuh aromatik, sedangkan serapan rentangan cincin C=C aromatik muncul pada serapan di daerah 1589,34 cm^{-1} . Serapan pada bilangan gelombang 1681,93 cm^{-1} merupakan serapan C=O aldehyd yang didukung oleh munculnya C-H yang ditunjukkan dengan dua serapan lemah pada bilangan gelombang 2831,50 dan 2769,78 cm^{-1} . Serapan C-N ditunjukkan dengan adanya serapan pada bilangan gelombang 1311,59 cm^{-1} . Serapan untuk gugus C-O eter ditunjukkan pada bilangan gelombang 1141,86 cm^{-1} .

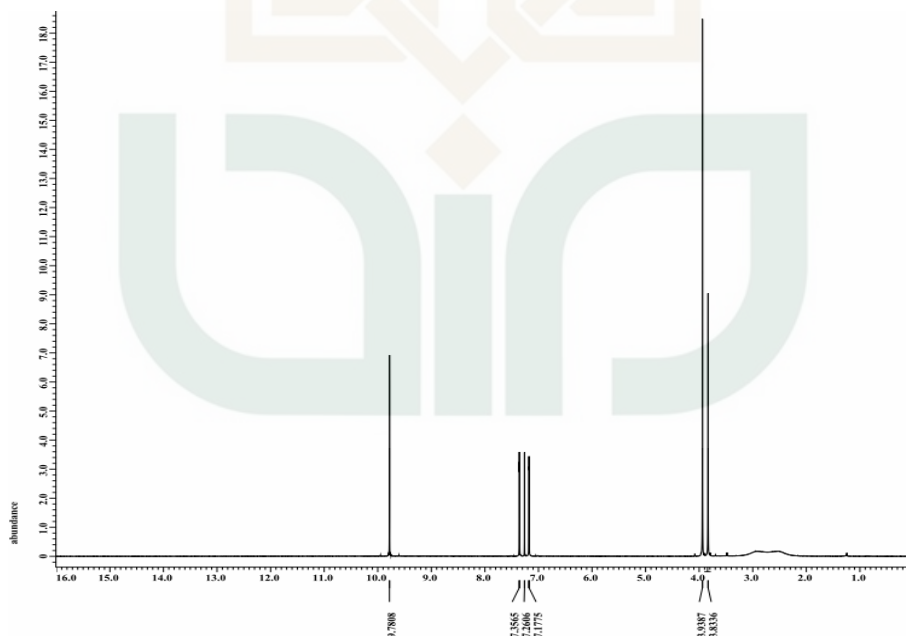
Reaksi Mannich mengalami perubahan yang khas yaitu terbentuknya amina tersier dari suatu amina sekunder (piperazin). Menurut Coates (2000) spektra IR juga dapat mengidentifikasi terbentuknya suatu amina tersier. Jika amina tersier telah terbentuk maka dapat dipastikan reaksi telah berjalan dengan baik. Amina primer, amina sekunder, dan amina tersier memiliki serapan N-H yang khas pada bilangan gelombang 3200-3400 cm^{-1} .



Gambar 4. (a) Spektra FT-IR dari suatu Amina Primer; (b) Spektra FT-IR dari suatu Amina Sekunder; (c) Spektra FT-IR dari suatu Amina Tersier

Spektra tersebut menunjukkan bahwa suatu amina primer memiliki serapan N-H ganda pada bilangan gelombang 3200-3400 cm^{-1} , amina sekunder dengan serapan tunggal, dan amina tersier tidak menunjukkan adanya serapan. Spektra IR dari senyawa hasil sintesis tidak menunjukkan adanya serapan N-H tetapi masih menunjukkan adanya serapan C-N. Hal ini menandakan bahwa senyawa target yang berupa amina tersier telah terbentuk. Berdasarkan analisis spektra IR yang ada menunjukkan bahwa gugus-gugus fungsional dalam senyawa target telah terdeteksi semua dalam spektra IR.

Spektrum $^1\text{H-NMR}$ dari produk hasil sintesis menunjukkan adanya 5 lingkungan. Kelima lingkungan tersebut masing-masing berada pada pergeseran kimia (δ) 3,8336; 3,9387; 7,1775; 7,3565; dan 9,7808 ppm. Peak dengan pergeseran kimia 3,8336 ppm merupakan peak yang menyatakan proton dari dua jembatan metilen (N-CH_2) dengan integrasi setara dengan 4 hidrogen. Peak pada pergeseran kimia 3,9387 ppm yang setara dengan 6 hidrogen merupakan peak dari proton pada gugus metoksi ($-\text{OCH}_3$). Peak pada pergeseran kimia 7,1775 ppm merupakan peak yang menyatakan 2 hidrogen pada cincin benzena yang berada pada atom karbon nomor 6 sedangkan peak pada pergeseran kimia 7,3565 ppm merupakan peak dari 2 hidrogen dari atom karbon nomor 4 pada cincin benzena. Pada pergeseran kimia 9,7808 terdapat peak yang menyatakan 2 hidrogen yaitu hidrogen dari gugus aldehid ($-\text{CHO}$). Berikut ini adalah spektra $^1\text{H-NMR}$ dari senyawa hasil sintesis dan integrasinya dengan proton pada senyawa hasil sintesis.



Gambar 5. Spektra $^1\text{H-NMR}$ 500 MHz dari Senyawa Hasil Sintesis

Munculnya peak pada pergeseran kimia 3,8336 ppm yang merupakan peak dari lingkungan proton jembatan metilen (N-CH_2). Adanya peak ini dalam spektra

menunjukkan bahwa telah terjadinya reaksi sehingga piperazin terikat diantara dua molekul vanilin yang dijembatani oleh jembatan metilen. Berdasarkan interpretasi di atas maka dapat dipastikan bahwa senyawa hasil sintesis merupakan senyawa target yang diharapkan yaitu 1,4-bis [(2-hidroksi-3-metoksi-5-metanal-fenil)-metil] piperazin.

Uji Aktifitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH. Metode ini menggunakan radikal DPPH sebagai radikal yang akan bereaksi dengan senyawa antioksidan. Akibat reaksinya dengan senyawa antioksidan, warna larutan DPPH akan mengalami degradasi (Molyneux, 2004). Proses degradasi warna larutan berbanding lurus dengan konsentrasi senyawa antioksidan.

Vanilin dan senyawa turunan vanilin 1,4-bis [(2-hidroksi-3-metoksi-5-metanal-fenil)-metil] piperazin direaksikan dengan radikal DPPH dalam pelarut kloroform. Pengukuran dilakukan pada λ maks yaitu 530 nm dan diperoleh waktu reaksi optimal yaitu untuk vanilin 21 jam sedangkan untuk senyawa 1,4-bis [(2-hidroksi-3-metoksi-5-metanal-fenil)-metil] piperazin yaitu 45 jam.

Penentuan aktivitas antioksidan dilakukan dengan menghitung nilai IC_{50} (Prakash *et al.* 2007). Nilai IC_{50} menggambarkan besarnya konsentrasi senyawa uji yang dapat menghambat radikal sebesar 50 %. Semakin kecil nilai IC_{50} suatu senyawa maka semakin baik aktivitas antioksidannya. Nilai IC_{50} diperoleh dari persamaan regresi linier yang menyatakan hubungan antara konsentrasi sampel (senyawa uji) dengan aktivitas antioksidan (Yu, 2008).

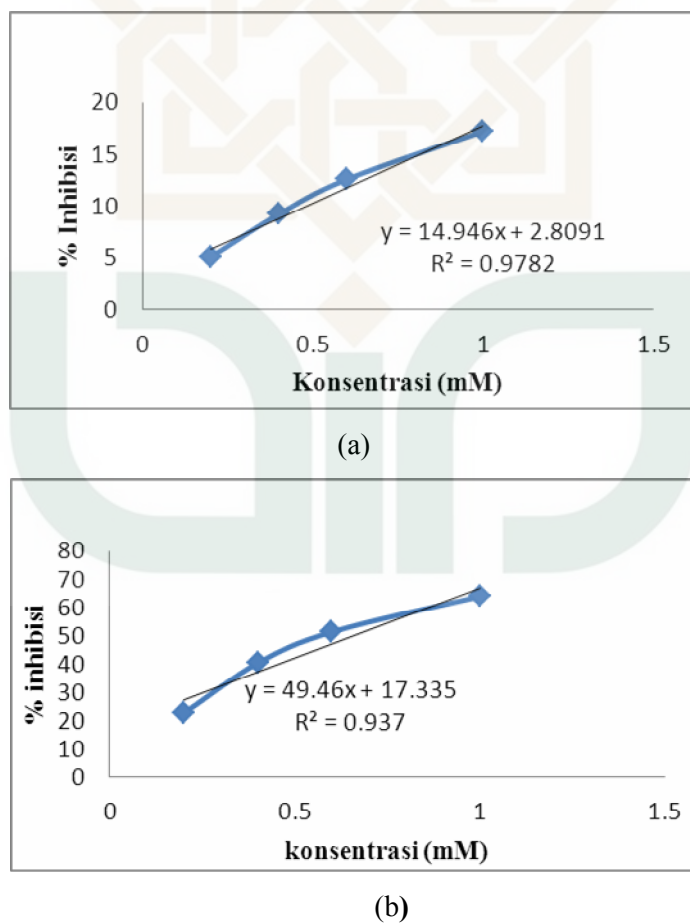
Tabel 1 memperlihatkan kemampuan senyawa 1,4-bis [(2-hidroksi-3-metoksi-5-metanal-fenil)-metil] piperazin dalam menghambat DPPH. Berdasarkan data dari tabel tersebut terlihat bahwa kemampuan senyawa 1,4-bis [(2-hidroksi-3-metoksi-5-metanal-fenil)-metil] piperazin dalam menghambat DPPH lebih baik dari vanilin. Pada konsentrasi yang relatif kecil, yaitu 0,2 mM, senyawa 1,4-bis [(2-hidroksi-3-metoksi-5-metanal-fenil)-metil] piperazin mampu menghambat DPPH hingga 22,689%, sangat

jauh perbedaannya dengan kemampuan vanilin yang hanya mampu menghambat 5,042%.

Tabel 1. Nilai persen (%) inhibisi dan konsentrasi dari vanilin dan senyawa 1,4-bis[(2- hidroksi-3-metoksi-5-metanal-fenil)-metil] piperazin

No	Konsentrasi (mM)	Persen (%) inhibisi	
		vanilin	senyawa hasil sintesis
1.	0,2	5,042	22,689
2.	0,4	9,244	40,336
3.	0,6	12,605	51,261
4.	1	17,227	63,866

Kurva konsentrasi terhadap % inhibisi dari vanilin dan 1,4-bis [(2-hidroksi-3-metoksi-5-metanal-fenil)-metil] piperazin disajikan pada Gambar 6.

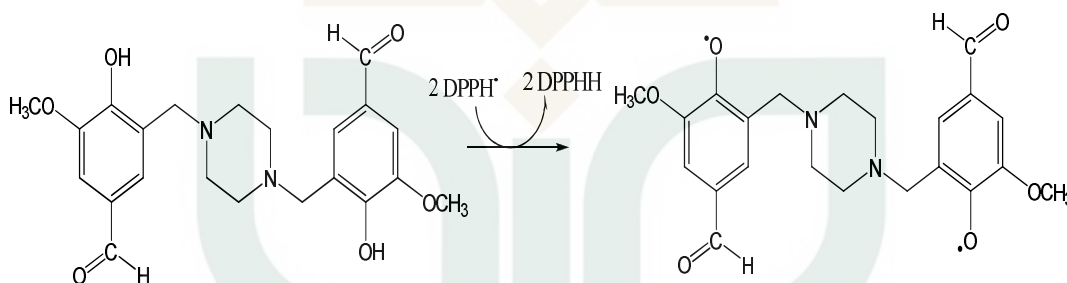


Gambar 6. Kurva konsentrasi terhadap % inhibisi dari vanilin (a); dan senyawa hasil sintesis (1,4-bis [(2-hidroksi-3-metoksi-5-metanal-fenil)-metil] piperazin) (b)

Dari grafik di atas dapat diketahui bahwa vanilin memiliki nilai IC_{50} 3,158 mM sedangkan senyawa 1,4-bis [(2-hidroksi-3-metoksi-5-metanal-fenil)-metil] piperazin 0,661 mM. Data tersebut menunjukkan bahwa senyawa 1,4-bis [(2-hidroksi-3-metoksi-5-metanal-fenil)-metil]piperazin memiliki aktivitas anti-oksidan 5 kali lebih baik dari vanilin. Hal ini dapat disebabkan karena terdapatnya dua gugus hidroksi dalam satu molekul menyebabkan lebih banyak radikal hidrogen yang dapat disumbangkan untuk menetralkan radikal (Apak *et al.*, 2007).

Senyawa fenolik memiliki aktivitas antioksidan karena mampu mendonorkan radikal hidrogen untuk menetralkan radikal bebas dan radikal fenolik yang terbentuk akan terstabilkan oleh resonansi.

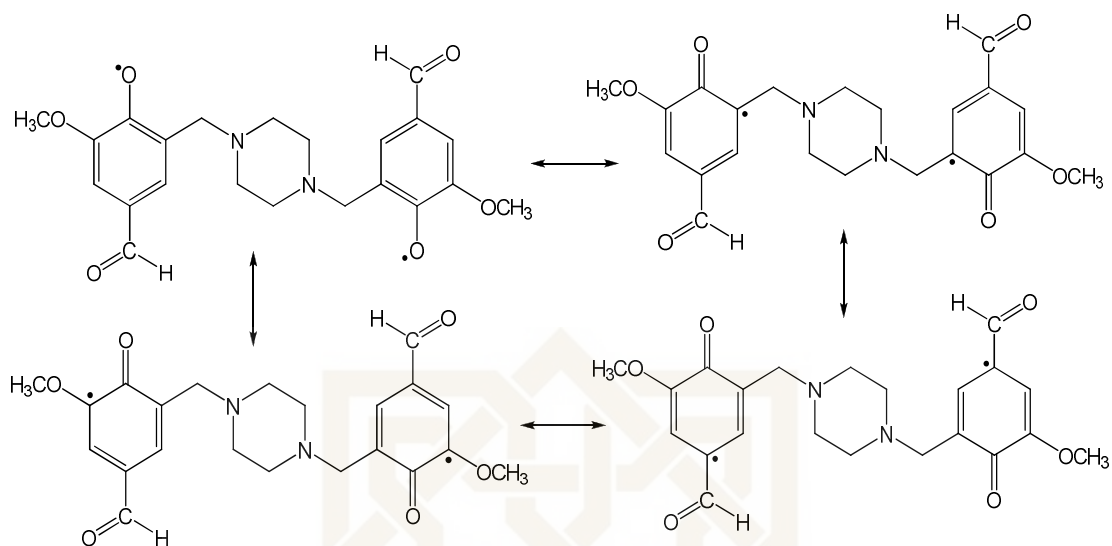
Senyawa 1,4-bis [(2-hidroksi-3-metoksi-5-metanal-fenil)-metil] piperazin yang merupakan turunan vanilin juga memiliki mekanisme penghambatan terhadap radikal DPPH yang sama dengan vanilin. Reaksi antara radikal DPPH dengan senyawa 1,4-bis [(2-hidroksi-3-metoksi-5-metanal-fenil)-metil] piperazin ditunjukkan pada Gambar 7 berikut.



Gambar 7. Reaksi antara senyawa 1,4-bis [(2-hidroksi-3-metoksi-5-metanal-fenil)-metil] piperazin dengan radikal DPPH

Berdasarkan reaksi tersebut diketahui bahwa dua molekul DPPH akan menjadi stabil setelah bereaksi dengan sebuah molekul senyawa 1,4-bis [(2-hidroksi-3-metoksi-5-metanal-fenil)-metil] piperazin. Radikal DPPH menjadi DPPHH karena mendapat donor radikal hidrogen dari senyawa 1,4-bis [(2-hidroksi-3-metoksi-5-metanal-fenil)-metil] piperazin. Reaksi tersebut menyebabkan senyawa 1,4-bis [(2-hidroksi-3-metoksi-5-metanal-fenil)-metil] piperazin menjadi radikal, tetapi radikal yang terbentuk tetap

stabil oleh adanya struktur resonansi. Struktur resonansi dari radikal 1,4-bis [(2-hidroksi-3-metoksi-5-metanal-fenil)-metil] piperazin disajikan pada Gambar 8.



Gambar 8. Struktur Resonansi Dari Radikal 1,4-Bis [(2-Hidroksi-3-Metoksi-5-Metanal-Fenil)-Metil] Piperazin

Perbedaan kapasitas penetralan radikal DPPH yaitu nilai IC_{50} dari senyawa 1,4-bis [(2-hidroksi-3-metoksi-5-metanal-fenil)-metil]piperazin lebih rendah dari vanilin. Hal ini dapat diartikan bahwa senyawa 1,4-bis [(2-hidroksi-3-metoksi-5-metanal-fenil)-metil] piperazin lebih aktif sebagai zat antioksidan jika dibandingkan dengan vanillin.

D. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan, maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Senyawa 1,4-bis [(2-hidroksi-3-metoksi-5-metanal-fenil)-metil] piperazin dapat disintesis menggunakan bahan dasar vanilin, piperazin, dan formaldehida melalui mekanisme reaksi Mannich dengan rendemen 67,49 %.
2. Berdasarkan uji aktivitas antioksidan metode DPPH diketahui bahwa senyawa 1,4-bis [(2-hidroksi-3-metoksi-5-metanal-fenil)-metil] piperazin memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dari vanilin. Nilai IC_{50} dari senyawa 1,4-bis [(2-

hidroksi-3-metoksi-5-metanal-fenil)-metil] piperazin adalah 0,661 mM lebih rendah dari nilai IC_{50} dari vanilin yaitu 3,158 mM.

E. Ucapan Terima Kasih

Pada kesempatan ini kami mengucapkan terimakasih kepada Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta yang telah membantu membiayai penelitian ini melalui Hibah Penelitian Dana DIPA tahun 2011.

Daftar Pustaka

- Apak R., Güçlü K., Demirata B., Özyürek M., Çelik S.E., Bektaşoğlu B., Berker K.I., dan Özyurt D., 2007, Comparative Evaluation of Various Total Antioxidant Capacity Assays Applied to Phenolic Compounds with the CUPRAC Assay, *Molecules*, 12, 1496-1547.
- Bondet, V., Brand-Williams W., dan Berset C., 1997, Kinetics and Mechanisms of Antioxidant Activity using the DPPH • Free Radical Method, *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.*, 30, 609–615.
- Chi K.W., Yoon, S.A., Kwang, T.S., Hwang, H., dan Jeong, S.A., 2002, Synthesis of Diazacrown Ethers Containing Phenolic Side Arms and Their Complex with Divalent Metal Ions. *Bull. Korean Chem. Soc.*, 23 (5).
- Coates. John, 2000, *Interpretation of Infrared Spectra: A Practical Approach*, John Wiley & Sons Ltd, Chichester.
- Gharavi, N., Susan, H., dan Ayman, O.S., 2007, Chemoprotective and Carcinogenic Effects of tert-Butylhydroquinone and Its Metabolites, *Current Drug Metabolism*, 8, 1-7.
- Jain, K., Kataria, S., Guruprasad, K.N. 2004. Effect of UV-B Radiation On Antioxidant Enzymes and Its Modulation By Benzoquinone and α -tocopherol in Cucumber cotyledons, *Current Science*, Vol.87
- Khalil, M.Y., Moustafa, A.A., dan Naguib, N.Y., 2007, Growth, Phenolic Compounds, and Antioxidant Activity of Some Medical Plants Grown under Organic Farming Condition, *World Journal of Agricultural Sciences*, 3(4): 451-457.
- Molyneux Philip, 2004, The Use of Stable Free Radical Diphenyl –picrylhydrazyl (DPPH) for Estimating antioxidant Activity. *Songklanakarin J. Sci Technol*, 26 (2) : 211-219.
- Prakash, D., Upadhyay, G., Singh, B.N., Dhakarey, R., Kumar, S., dan Singh, K.K., 2007, Free Radical Scavenging Activities of Himalayan Rododendrons, *Current Science*, 92 (4), 526-532.
- Prawono. 2000. Pembutan Antioksidan dari Limbah Industri Kayu. *Laporan Penelitian*, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

- Shyamala, B.N., Naidu, M., Sulochanamma, G.S., Srinivas, P., 2007, Studies on the antioxidant activities of natural vanilla extract and its constituent compounds through in vitro models. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 7738–7743.
- Winarsi, Hery. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius
- Youngson, Robert, 2005, *Antioksidan : manfaat Vitamin C & E bagi Kesehatan*. Terjemahan Susi Purwoko, Arcan, Jakarta
- Yu L. dan Cheng Z., 2008, Antioxidant Properties of Wheat Phenolic Acids, dalam *Wheat Antioxidants*, John Wiley & Sons, Inc., New Jersey.

